



R. PCT/FR 03/02773 17 MAR 2003

REC'D 01 DEC 2003	
WIPO	PCT

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 24 SEP. 2003

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
[www.inpi.fr](http://www.inpi.fr)

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2**

**Important** Remplir impérativement la 2ème page.

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 190600

<b>REMISE DES PIÈCES</b> <b>DATE</b> 19 SEP. 2002 <b>LIEU</b> <b>N° D'ENREGISTREMENT</b> 02116 14 <b>NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI</b> <b>DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI</b> 19 SEP. 2002		<b>NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</b>  BREESE-MAJEROWICZ 3 avenue de l'Opéra 75001 PARIS	
<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b> 27117FR			
<b>Confirmation d'un dépôt par télécopie</b> <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
<b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b>		<b>Cochez l'une des 4 cases suivantes</b>	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N°	Date
ou demande de certificat d'utilité initiale		N°	Date
Transformation d'une demande de brevet européen		<input type="checkbox"/>	Date
Demande de brevet initiale		N°	Date
<b>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b>  SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE NOUVEAUX SYSTÈMES DE GUIDAGE ET DE VECTORISATION DE MOLECULES D'INTERET THERAPEUTIQUE VERS DES CELLULES CIBLES			
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation Date N° Pays ou organisation Date N° Pays ou organisation Date N° <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
<b>5 DEMANDEUR</b>		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS -	
Prénoms			
Forme juridique			
N° SIREN			
Code APE-NAF			
Adresse	Rue	3 rue Michel-Ange	
	Code postal et ville	75794	PARIS Cedex 16
Pays		France	
Nationalité		France	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			

REMISE DES PIÈCES DATE LIEU		Réservé à l'INPI 19 SEP. 2002 02116 14 75	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		DB 540 W / 190660	
Vos références pour ce dossier : (facultatif)		27117FR	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>MANDATAIRE</b>			
Nom		MAJEROWICZ	
Prénom		Marc	
Cabinet ou Société		BREESE-MAJEROWICZ	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	3 avenue de l'Opéra	
	Code postal et ville	75001	Paris
N° de téléphone (facultatif)		01 47 03 67 77	
N° de télécopie (facultatif)		01 47 03 67 78	
Adresse électronique (facultatif)		office@breese.fr	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>INVENTEUR (S)</b>			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>RAPPORT DE RECHERCHE</b>		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence):	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) MAJEROWICZ Marc 960703		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b> Certe	

SYNTHESE ET CARACTERISATION DE NOUVEAUX SYSTEMES DE  
GUIDAGE ET DE VECTORISATION DE MOLECULES D'INTERET  
THERAPEUTIQUE VERS DES CELLULES CIBLES.

5

La présente invention concerne la synthèse et la caractérisation de nouveaux systèmes de guidage et de vectorisation de molécules d'intérêt thérapeutique vers des cellules cibles.

10

Plus précisément, l'invention s'intéresse à des complexes moléculaires capables de combiner plusieurs molécules fonctionnelles, possédant des propriétés prédéfinies de reconnaissances ou effectrices, à leur procédé de préparation et à leur utilisation thérapeutique ou comme outils de diagnostic.

15

La littérature décrit de nombreux procédés d'obtention de complexes bio-conjugués polyfonctionnels monovalents (Lemieux et al. *Trends in Biotechnology*, 1998, 16, 506-513). Toutefois, ces complexes suscitent une réponse biologique relativement faible. Des systèmes multivalents ont alors été préparés (Tam et al., *Biomedical Peptides, Proteins & Nucleic Acids*, 1995, 1, 123-132). Des études ont démontré que les complexes polyvalents étaient, de manière générale, de bien meilleurs outils biologiques que les complexes bio-conjugués monovalents (Grubbs, R.H. et al., *J.Am. Chem. Soc.*, 2001, 123, 1275-1279).

20

25

30

L'intérêt de tels complexes bio-conjugués est d'associer les propriétés propres d'au moins deux classes de molécules différentes. Toutefois, une des difficultés qui se présente est l'interaction potentielle que peuvent présenter les différentes molécules d'un bio-conjugué. Cette interaction peut modifier les propriétés résultant de la bio-conjugaison. Une solution à ce problème consiste à séparer spatialement les points de bio-conjugaison, ce qui a

conduit au développement de gabarit ou de châssis moléculaires adressables. L. Scheibler, P. Dumy et al., *Tetrahedron*, 1998, 54, 3725-3734, décrit la synthèse et la caractérisation de châssis moléculaires fonctionnalisés

5 avec des groupes de coordination et des chaînes alcanes.

Une autre difficulté est la fixation sur le châssis des molécules d'intérêt. L. Scheibler, P. Dumy et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, 38, 696-699, décrit un châssis fonctionnalisé chimiosélectivement sur une face au moyen  
10 d'une liaison oxime.

Les enseignements de l'état de la technique ne permettent toutefois pas de synthétiser un châssis fonctionnalisé sur les deux faces, une au moins des fonctionnalisations étant chimiosélective, chaque face  
15 portant des molécules d'intérêt thérapeutique ou de diagnostic ou de marquage.

L'invention a donc pour objet un procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé sur ses deux faces.

20 Plus précisément, l'invention a pour objet un procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé formant un châssis définissant deux faces, une face dite supérieure et une face dite inférieure, lesdites deux faces étant toutes les deux greffées, caractérisé en ce que l'on  
25 synthétise un peptide linéaire, ladite synthèse étant effectuée à partir d'acides aminés modifiés ou non, certains d'entre eux portant des groupes protecteurs orthogonaux, on effectue une cyclisation intramoléculaire du peptide linéaire obtenu, on substitue tout ou partie des  
30 groupes protecteurs orthogonaux par un précurseur protégé, on greffe sur l'une et/ou l'autre face dudit châssis, par une liaison oxime, au moins une molécule d'intérêt.

La présente invention concerne donc un procédé de préparation du châssis moléculaire d'une molécule polyfonctionnelle, obtenue en quatre étapes : (1) la synthèse d'un peptide linéaire ; (2) la cyclisation  
5 intramoléculaire de ce peptide linéaire de manière à obtenir un châssis moléculaire ; (3) la fonctionnalisation de ce châssis ; (4) le greffage d'au moins une molécule d'intérêt sur l'une et/ou l'autre face de ce châssis.

Les acides aminés utilisés pour la synthèse peptidique  
10 sont de toute nature, y compris les acides aminés de la série (D), les acides aminés de la série (L), ainsi que tout acide aminé modifié, les acides aminés étant naturels ou synthétiques. Certains de ces acides aminés sont substitués par des groupes protecteurs orthogonaux. Les  
15 groupes protecteurs orthogonaux sont des groupes chimiques orientés perpendiculairement par rapport au plan médian du châssis ; ils masquent la réactivité d'un atome ou d'un groupe d'atome et leur élimination chimique n'affecte pas  
les autres groupes protecteurs de nature différente  
20 présents au sein de la molécule. Leur choix dépend de la nature de l'acide aminé et du châssis désiré.

Suivant un premier mode de réalisation de l'invention, la synthèse du peptide linéaire, effectuée sur phase solide, est initiée à partir d'un résidu de glycine  
25 dont la fonction carboxylique est ancrée à une résine, et la cyclisation du peptide linéaire obtenu est effectuée en solution après libération de la résine. La stratégie d'élongation d'un tel peptide linéaire est décrite dans l'état de la technique (P. Dumy et al., Tetrahedron Lett.  
30 1995, 36, 1255-1258). L'initiation de la synthèse par un résidu de glycine permet d'éviter tout risque d'épimérisation durant l'étape suivante de cyclisation. De préférence, la glycine est reliée à la résine par sa fonction carboxylique. Sa fonction alpha amine est protégée

par un groupe protecteur permettant par synthèse l'élongation du peptide. À l'issue de la synthèse du peptide linéaire, la fonction alpha aminoterminal de peptide est libérée du groupe protecteur au cours d'une

5 première étape et la fonction carboxyterminale est libérée de la résine au cours d'une seconde étape de libération du peptide linéaire protégé, les chaînes latérales restant protégées par leur groupe protecteur orthogonal. Les fonctions chimiques N- et C-terminales libérées du peptide  
10 linéaire solubilisé réagissent pour former une liaison peptidique intramoléculaire au cours d'une étape de cyclisation intramoléculaire effectuée en solution.

Suivant un second mode de réalisation, la synthèse  
15 du peptide linéaire puis sa cyclisation sont entièrement effectuées sur phase solide. Dans ce mode de réalisation, la synthèse du peptide linéaire est initiée par un résidu d'acide aminé dont la chaîne latérale est ancrée à une résine, laissant sa fonction carboxylique libre d'ancrage.  
20 La fonction alpha amine et la fonction carboxylique de cet acide aminé sont protégées chacune par un groupe protecteur, les deux groupes protecteurs étant orthogonaux entre eux.

À l'issue de la synthèse du peptide linéaire, les  
25 fonctions alpha aminoterminal et carboxyterminale sont libérées sélectivement de leur groupe protecteur respectif et le peptide linéaire obtenu reste lié à la résine par la chaîne latérale du premier résidu d'acide aminé. Les fonctions chimiques terminales du peptide linéaire obtenu  
30 sont alors libres pour pouvoir réagir entre elles et former un cycle intramoléculaire au cours d'une étape de cyclisation intramoléculaire effectuée sur phase solide.

Dans ce mode de réalisation, le procédé est avantageusement entièrement ou partiellement automatisé sur robot synthétiseur de peptides.

Avantageusement, le cyclopeptide est formé de 5, 10 ou 14 résidus d'acides aminés, de préférence 10 acides aminés formant un cyclodécapeptide. Le cyclopeptide cyclisé selon l'invention présente au moins un coude, préférentiellement deux coudes. Certains cyclopeptides selon l'invention présentent une symétrie centrale.

10        Suivant un mode de réalisation préféré, le cyclopeptide présente 10 ou 14 résidus d'acides aminés et forme deux coudes, chaque coude étant formé par une combinaison (L)Pro-(D)AA ou (D)Pro-(L)AA, AA étant un acide aminé et de préférence la glycine, les deux coudes étant  
15        séparés par trois et/ou cinq résidus d'acides aminés.

La présence du résidu proline au niveau du coude est justifiée par le fait que la proline montre une configuration spatiale caractéristique, en comparaison des autres acides aminés, du fait de sa structure cyclique.  
20        Cette caractéristique confère une restriction conformationnelle au squelette peptidique en comparaison à celle adoptée avec des acides aminés autre que la proline ou ses dérivés. Cette restriction est, notamment, à l'origine des coudes dans les structures polypeptidiques  
25        secondaires et supersecondaires.

L'autre résidu d'acide aminé du coude, ci-dessus représenté par le sigle AA, est préférentiellement un résidu d'acide aminé autre que celui de la proline et de stéréochimie opposée et très préférentiellement le résidu  
30        glycine.

Les coudes sont séparés par des résidus d'acides aminés, préférentiellement un nombre impair de résidu d'acides aminés et très préférentiellement trois et/ou cinq



acides aminés pour un cyclodécapeptide et un cyclotérapeptide respectivement.

Les cyclopeptides à deux coudes et ayant un nombre pair de résidus d'acides aminés présentent un plan médian

5 qui définit une face dite supérieure et une face dite inférieure.

De préférence, les trois et/ou cinq résidus d'acides aminés ont chacun une fonction chimique protégée orthogonalement par un groupe protecteur. Les groupes  
10 protecteurs des chaînes latérales de ces acides aminés se dirigent alternativement de part et d'autre du plan médian dudit châssis et définissent une face dite inférieure et supérieure par rapport à ce plan.

Ces résidus d'acides aminés sont préférentiellement  
15 des résidus d'acides aminés portant des fonctions chimiques du type  $-NH_2$ ,  $-SH$  ou  $-COOH$ . Suivant un mode de réalisation particulier de l'invention, ces trois ou cinq résidus d'acides aminés sont préférentiellement des acides aminés à chaîne latérale amine, et très préférentiellement, la  
20 lysine.

Suivant un mode de réalisation particulier de l'invention, les groupes protecteurs orthogonaux des résidus d'acides aminés centraux sont identiques entre eux, les groupes protecteurs orthogonaux des résidus d'acides  
25 aminés autres que centraux sont identiques entre eux, les groupes protecteurs orthogonaux des résidus d'acides aminés centraux, d'une part, et les groupes protecteurs orthogonaux des autres résidus d'acides aminés, d'autre part, sont différents les uns des autres.

30 Suivant un mode de réalisation particulier de l'invention, on débute le greffage du châssis en substituant des groupes protecteurs orthogonaux par un précurseur protégé de la fonction oxyamine ou un précurseur

masqué et protégé de la fonction aldéhyde, en particulier  $\alpha$ -oxoaldéhyde ou par un marqueur.

Avantageusement, ce précurseur protégé est l'acide 2-oxyamino-acétique protégé (AOA) sur l'azote ou encore un  
5 dérivé de la sérine, précurseur de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde, dont les fonctions amine et hydroxyle sont protégées, et dont la déprotection puis le clivage oxydatif libère le groupement aldéhyde, et de préférence est Boc-Ser(tBu)OH.

10 Suivant un premier mode de réalisation, l'on effectue en premier lieu la substitution des groupes protecteurs orthogonaux de la face inférieure par un marqueur, de préférence la biotine ou la fluorescéine, puis  
15 dans une deuxième étape, on substitue les groupes protecteurs orthogonaux de la face supérieure du châssis par un précurseur protégé de la fonction oxyamine ou de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

On fait réagir ensuite la fonction oxyamine ou  $\alpha$ -oxoaldéhyde du précurseur, préalablement déprotégé, avec  
20 une molécule d'intérêt ou une molécule intermédiaire portant une fonction respectivement  $\alpha$ -oxoaldéhyde ou oxyamine. Dans ce mode de réalisation, la substitution de la face inférieure est classique, tandis que la substitution de la face supérieure est chimiosélective.

25

Suivant un second mode de réalisation, l'on effectue en premier lieu la substitution des groupes protecteurs orthogonaux de la face inférieure du châssis par un précurseur protégé de la fonction oxyamine puis dans  
30 une deuxième étape on substitue les groupes protecteurs orthogonaux de la face supérieure du cyclopeptide par un précurseur protégé de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

Suivant un troisième mode de réalisation de l'invention l'on effectue en premier lieu la substitution des groupes protecteurs orthogonaux de la face supérieure du châssis par un précurseur protégé de la fonction

5 oxyamine puis dans une deuxième étape on substitue les groupes protecteurs orthogonaux de la face inférieure du cyclopeptide par un précurseur protégé de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

Avantageusement, l'on fait réagir les fonctions  
10 oxyamine ou  $\alpha$ -oxoaldéhyde des précurseurs, préalablement déprotégées, avec une ou plusieurs molécules d'intérêt ou une molécule intermédiaire portant une fonction respectivement  $\alpha$ -oxoaldéhyde ou oxyamine.

De préférence, l'on fait réagir la fonction  
15 oxyamine du précurseur située sur le châssis avec une molécule d'intérêt portant une fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde, puis on oxyde le précurseur de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde situé sur le châssis et l'on poursuit la réaction avec une mise en contact du châssis avec au moins une molécule d'intérêt  
20 ou une molécule intermédiaire portant une fonction oxyamine.

La ou les molécules intermédiaires portent d'une part une fonction oxyamine capable de réagir avec la ou les fonctions  $\alpha$ -oxoaldéhydes situées sur le châssis, et portent  
25 d'autre part un précurseur d'au moins une fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

La ou les molécules d'intérêt sont identiques ou différentes les unes des autres.

Avantageusement, la molécule d'intérêt est un acide  
30 nucléique, un peptide, un oligosaccharide, ou une molécule organique. Toute molécule d'intérêt thérapeutique ou de diagnostic portant une fonction oxyamine ou  $\alpha$ -oxoaldéhyde peut être greffée sur le châssis.

Suivant un mode de réalisation préféré de l'invention, la molécule d'intérêt est le cyclopentapeptide c(RGDfK).

Avantageusement, le procédé selon l'invention, lorsque la synthèse et la cyclisation sont réalisées en phases solides, est entièrement ou partiellement automatisé sur robot synthétiseur de peptide.

L'invention a également pour objet un cyclopeptide homodétique greffé caractérisé en ce qu'il est obtenu par le procédé selon l'invention.

Un autre objet de l'invention est une composition thérapeutique ou de diagnostic caractérisée en ce qu'elle comprend un cyclopeptide homodétique greffé obtenu par le procédé selon l'invention.

L'invention concerne également l'utilisation d'un cyclopeptide homodétique greffé obtenu par le procédé selon l'invention ou d'une composition le contenant, pour la fabrication d'un médicament destiné à soigner le cancer. L'invention concerne également l'utilisation d'un cyclopeptide homodétique greffé obtenu par le procédé selon l'invention ou d'une composition le contenant, comme outil de diagnostic du cancer.

Enfin, l'invention concerne également l'utilisation d'un cyclopeptide homodétique greffé obtenu par le procédé selon l'invention ou d'une composition le contenant, pour le diagnostic et/ou la suppression de la néoangiogénèse.

D'autres modes de réalisation du châssis et de son greffage selon l'invention sont représentés dans la description détaillée ci-dessous, qui se lit en regard des figures et illustre non limitativement l'invention.

La figure 1 illustre le schéma de préparation de cyclodécapeptides selon l'invention comportant, d'une part

sur la face supérieure la sérine précurseur de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde et sur la face inférieure la fonction oxyamine, et d'autre part sur la face supérieure la fonction oxyamine et sur la face inférieure la sérine

5 précurseur de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

La figure 2 illustre le schéma de préparation de macromolécules polyfonctionnelles par assemblage chimiosélectif successif des biomolécules R1 et R2 par lien oxime, d'une part sur la face inférieure puis supérieure du  
10 cyclodécapeptide, et d'autre part sur la face supérieure puis inférieure du cyclodécapeptide.

La figure 3 illustre le schéma de synthèse de macromolécules polyfonctionnelles par assemblage chimiosélectif successif par lien oxime, où la biomolécule  
15 R1 est greffée sur une face du cyclodécapeptide, où quatre molécules comportant une fonction oxyamine et au moins une sérine précurseur de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde est greffée sur l'autre face du cyclodécapeptide, et finalement où la biomolécule R2 est greffée après démasquage des fonctions  
20  $\alpha$ -oxoaldéhydes.

La figure 4 illustre le schéma de synthèse de macromolécules polyfonctionnelles par assemblage chimiosélectif successif par lien oxime, où la biomolécule R1 est greffée sur une face du cyclodécapeptide, où quatre  
25 molécules comportant une fonction oxyamine et quatre sérine précurseurs de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde est greffée sur l'autre face du cyclodécapeptide, et finalement où la biomolécule R2 est greffée après démasquage des fonctions  $\alpha$ -oxoaldéhydes.

30

Selon le premier mode de réalisation illustré sur la figure 1, on effectue en premier lieu la substitution

des groupes protecteurs orthogonaux PG de la face inférieure soit PG2 et PG5, par un précurseur protégé de la fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde, et de préférence Boc-Ser(tBu)OH ; dans une deuxième étape, on substitue les groupes protecteurs orthogonaux de la face supérieure du châssis, PG1, PG3, PG4, PG6 par un précurseur protégé de la fonction oxyamine, et de préférence Boc-AOA-OSu ; dans une troisième étape représentée sur la figure 2, on enlève tous les groupes protecteurs, la fonction oxyamine sur la face inférieure ainsi déprotégée va réagir en présence d'une première molécule d'intérêt portant une fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde ; dans une quatrième étape représentée sur la figure 2, on oxyde les résidus séryles, en fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde sur la face supérieure ; dans une cinquième étape, on fait réagir les fonctions  $\alpha$ -oxoaldéhydes de la face supérieure avec une seconde molécule d'intérêt portant une fonction oxyamine.

Selon le second mode de réalisation représenté sur la figure 1 et 2, on inverse l'ordre de substitution des groupes protecteurs orthogonaux et greffage des faces supérieure et inférieure par rapport au mode premier respectivement. Suivant un mode de réalisation particulier de l'invention présenté figure 3, la dernière molécule d'intérêt greffée sur le châssis via sa fonction oxyamine permettant son greffage sur la ou les fonctions  $\alpha$ -oxoaldéhydes situées sur le châssis, porte au moins un précurseur d'une fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde qui permet de poursuivre le procédé selon l'invention en oxydant ce précurseur en  $\alpha$ -oxoaldéhyde et en faisant réagir cette dernière avec une molécule d'intérêt présentant une fonction oxyamine, de manière à créer un lien oxime

---

supplémentaire. Cette étape complémentaire permet la construction de système modulaire via couplage oxime itératif sur le châssis par démasquage de fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde par oxydation successive.

---

- 5           Comme le décrit la figure 4, ce mode particulier permet avantageusement d'amplifier le nombre de molécules présentées in situ par le châssis dans le cas de molécule d'intérêt qui, greffée sur le châssis via sa fonction oxyamine permettant son greffage sur la ou les fonctions  $\alpha$ -
- 10   oxoaldéhydes situées sur le châssis, porte plus d'un précurseur d'une fonction  $\alpha$ -oxoaldéhyde.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé formant un châssis définissant deux  
5 faces, une face dite supérieure et une face dite inférieure, lesdites deux faces étant toutes les deux greffées, caractérisé en ce que l'on synthétise un peptide linéaire, ladite synthèse étant effectuée à partir d'acides aminés modifiés ou non, certains d'entre eux portant des  
10 groupes protecteurs orthogonaux, on effectue une cyclisation intramoléculaire du peptide protégé linéaire obtenu, on substitue tout ou partie des groupes protecteurs orthogonaux par un précurseur protégé, on greffe sur l'une et/ou l'autre face dudit châssis, par une liaison oxime, au  
15 moins une molécule d'intérêt.

2. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 1, caractérisé en ce que ladite synthèse du peptide linéaire, effectuée sur  
20 phase solide, est initiée à partir d'un résidu de glycine dont la fonction carboxylique est ancrée à une résine, et la cyclisation du peptide linéaire obtenu est effectuée en solution après libération de la résine.

25 3. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 1, caractérisé en ce que ladite synthèse du peptide linéaire puis sa cyclisation sont entièrement effectuées sur phase solide.

30 4. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ladite synthèse du peptide linéaire est initiée par un résidu d'acide aminé dont la chaîne latérale est ancrée à une résine.



5. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il est  
5 entièrement ou partiellement automatisé sur robot synthétiseur de peptides.

6. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des  
10 revendications 1 à 5, caractérisé en ce que ledit cyclopeptide est formé de 5, 10 ou 14 résidus d'acides aminés, de préférence 10 acides aminés formant un cyclodécapeptide.

7. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le cyclopeptide présente 10 ou 14 résidus d'acides aminés et forme deux coudes, lesdits deux coudes étant formés par une combinaison (L)Pro-(D)AA ou/et  
15 (D)Pro-(L)AA, AA étant un acide aminé et de préférence la glycine, les deux coudes étant séparés par trois ou cinq résidus d'acides aminés respectivement.

8. Procédé de préparation d'un cyclopeptide  
25 homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce que lesdits trois ou cinq résidus d'acides aminés ont chacun, sur leur chaîne latérale, une fonction chimique initialement protégée orthogonalement par un groupe protecteur, les groupes  
30 protecteurs des chaînes latérales de ces acides aminés se dirigent alternativement de part et d'autre du plan médian dudit châssis et définissent une face dite inférieure et supérieure par rapport à ce plan.

9. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce lesdits trois ou cinq résidus d'acides aminés sont préférentiellement des résidus aminoacides à chaîne latérale amine, et très préférentiellement la lysine.

10. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 6 à 9, caractérisé en ce que les groupes protecteurs orthogonaux desdits résidus d'acides aminés centraux sont identiques entre eux, les groupes protecteurs orthogonaux desdits autres résidus d'acides aminés sont identiques entre eux, les groupes protecteurs orthogonaux desdits résidus d'acides aminés centraux d'une part, et les groupes protecteurs orthogonaux desdits autres résidus d'acides aminés d'autre part, sont différents les uns des autres.

20 11. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on débute le greffage du châssis en substituant des groupes protecteurs orthogonaux par un précurseur protégé de la fonction oxyamine ou un précurseur masqué protégé de la fonction aldéhyde ou par un marqueur.

12. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 11, caractérisé en ce que ledit précurseur protégé est l'acide 2-oxyamino-acétique protégé (AOA).

13. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 11, caractérisé en ce que ledit précurseur masqué protégé est

un résidu de la sérine dont les fonctions amine et hydroxyle sont protégées, et dont l'oxydation libère un groupement aldéhyde, et de préférence est Boc-Ser(tBu)OH.

5 14. Procédé de préparation d'un  
cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des  
revendications 11 à 13, caractérisé en ce que l'on effectue  
en premier lieu la substitution des groupes protecteurs  
orthogonaux de la face inférieure par un marqueur, de  
10 préférence la biotine ou la fluorescéine, puis dans une  
deuxième étape, on substitue les groupes protecteurs  
orthogonaux de la face supérieure du châssis par un  
précurseur protégé de la fonction oxyamine ou de la  
fonction aldéhyde.

15 15. Procédé de préparation d'un  
cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des  
revendications 11 à 13, caractérisé en ce que l'on effectue  
en premier lieu la substitution des groupes protecteurs  
20 orthogonaux de la face inférieure du châssis par un  
précurseur protégé de la fonction oxyamine puis dans une  
deuxième étape on substitue les groupes protecteurs  
orthogonaux de la face supérieure du cyclopeptide par un  
précurseur masqué protégé de la fonction aldéhyde.

25 16. Procédé de préparation d'un  
cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des  
revendications 11 à 13, caractérisé en ce que l'on effectue  
en premier lieu la substitution des groupes protecteurs  
30 orthogonaux de la face supérieure du châssis par un  
précurseur protégé de la fonction oxyamine puis dans une  
deuxième étape on substitue les groupes protecteurs  
orthogonaux de la face inférieure du cyclopeptide par un  
précurseur masqué protégé de la fonction aldéhyde.

17. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 11 à 16, caractérisé en ce que l'on fait réagir les fonctions oxyamine ou aldéhyde générées à partir  
5 des précurseurs, préalablement déprotégées, avec une ou plusieurs molécules d'intérêt ou une molécule intermédiaire portant une fonction respectivement aldéhyde ou oxyamine.

18. Procédé de préparation d'un cyclopeptide  
10 homodétique greffé selon la revendication 17, caractérisé en ce que lesdites molécules d'intérêt sont identiques ou différentes les unes des autres.

19. Procédé de préparation d'un cyclopeptide  
15 homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 17 ou 18, caractérisé en ce que lesdites molécules d'intérêts sont des acides nucléiques, des peptides, des oligosaccharides, ou des molécules organiques.

20

20. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 19, caractérisé en ce que l'une au moins des molécules d'intérêt est le cyclopentapeptide c(RGDfK).

25

21. Procédé de préparation d'un cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 17 à 20, caractérisé en ce que l'on fait réagir la fonction oxyamine du précurseur situé sur le  
30 châssis avec au moins une molécule d'intérêt portant une fonction aldéhyde, puis on oxyde le précurseur de la fonction aldéhyde situé sur le châssis et l'on poursuit la réaction avec une mise en contact du châssis avec une

molécule d'intérêt ou une molécule intermédiaire portant une fonction oxyamine.

22. Procédé de préparation d'un  
5 cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 17 à 21, caractérisé en ce que ladite molécule intermédiaire porte d'une part une fonction oxyamine capable de réagir avec la ou les fonctions aldéhydes situées sur le châssis, et porte d'autre part un  
10 précurseur d'au moins une fonction aldéhyde.

23. Procédé de préparation d'un  
cyclopeptide homodétique greffé selon l'une quelconque des revendications 3 à 22, caractérisé en ce qu'il est  
15 entièrement ou partiellement automatisé sur robot synthétiseur de peptide.

24. Cyclopeptide homodétique greffé  
caractérisé en ce qu'il est obtenu par le procédé selon  
20 l'une quelconque des revendications 1 à 23.

25. Composition thérapeutique ou de  
diagnostic caractérisé en ce qu'elle comprend un  
cyclopeptide homodétique greffé selon la revendication 24.

25

26. Utilisation d'un cyclopeptide selon la  
revendication 24 ou d'une composition selon la  
revendication 25, pour la fabrication d'un médicament  
destiné à soigner le cancer

30

27. Utilisation d'un cyclopeptide selon la  
revendication 24 ou d'une composition selon la  
revendication 25, pour la fabrication d'un outil de  
diagnostic du cancer.

28. Utilisation d'un cyclopeptide selon la revendication 24 ou d'une composition selon la revendication 25, pour le diagnostic de la néoangiogénèse.

5 29. Utilisation d'un cyclopeptide selon la revendication 24 ou d'une composition selon la revendication 25, pour la suppression de la néoangiogénèse.

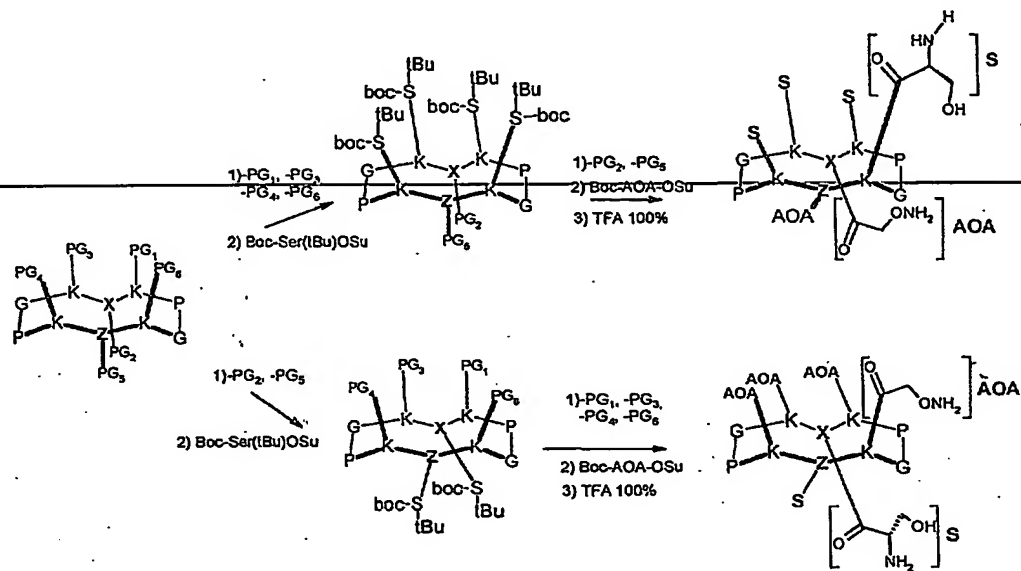
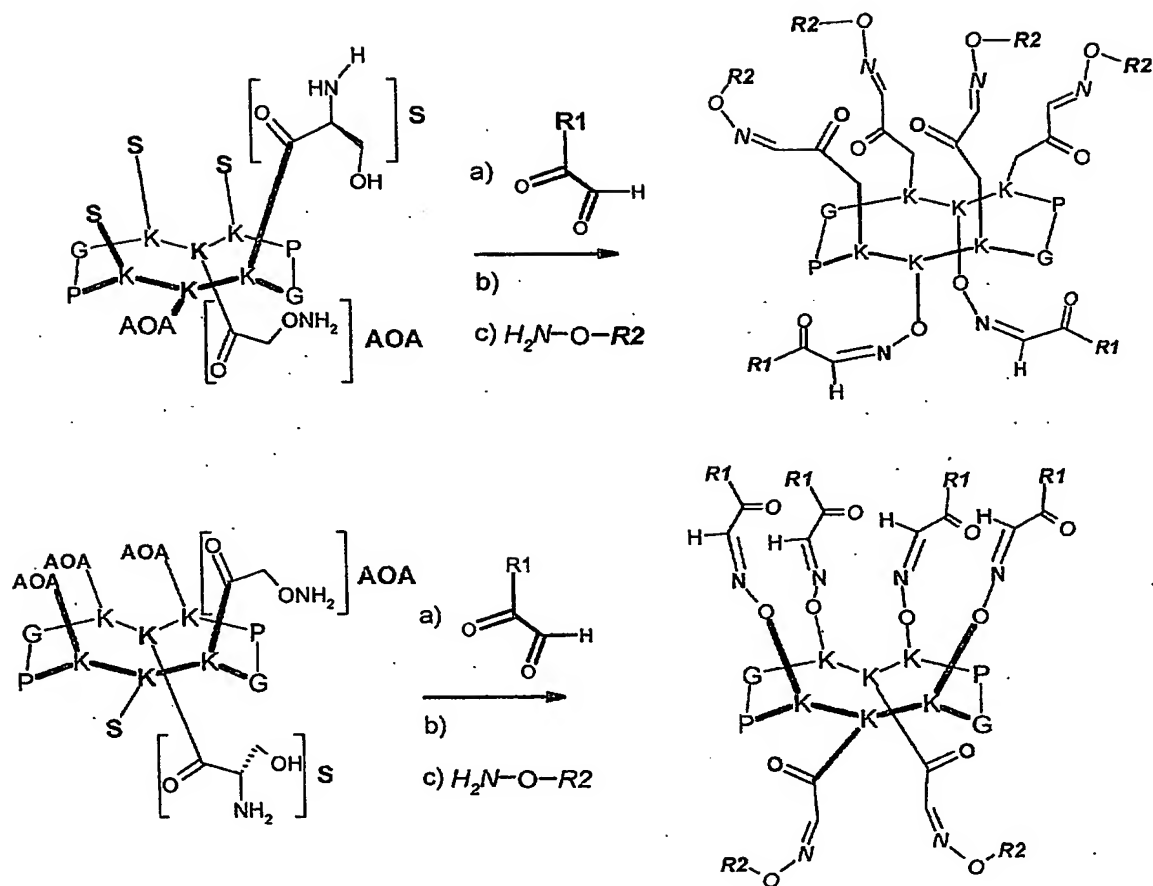


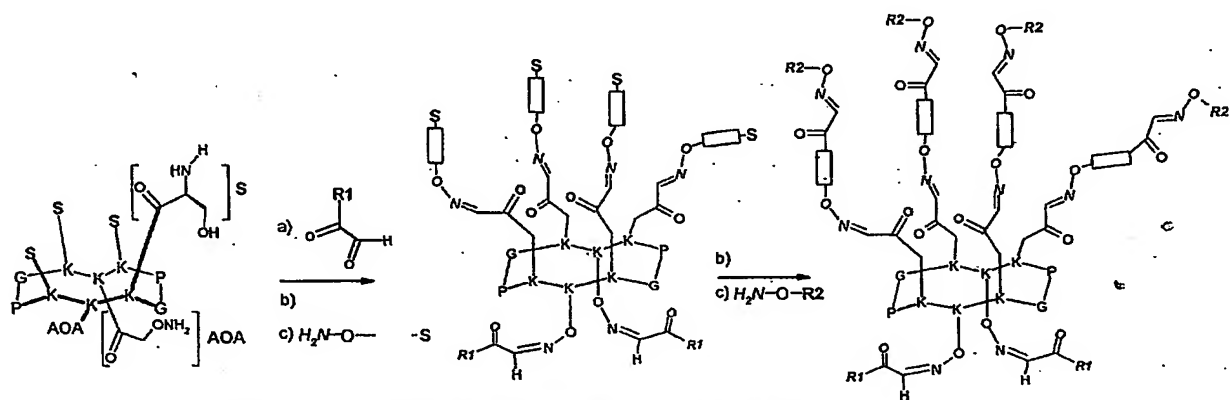
Figure 1



Réactifs : a) AcONa 0.1M pH4, 50-65% ; b)  $\text{NaIO}_4$ , eau, 61% ; c) AcONa 0.1M, pH4, 50-70%.

Figure 2





Réactifs : a) AcONa 0.1M pH4, 50-65% ; b) NaIO<sub>4</sub> eau, 61% ; c) AcONa 0.1M, pH4, 50-70%.

Figure 3

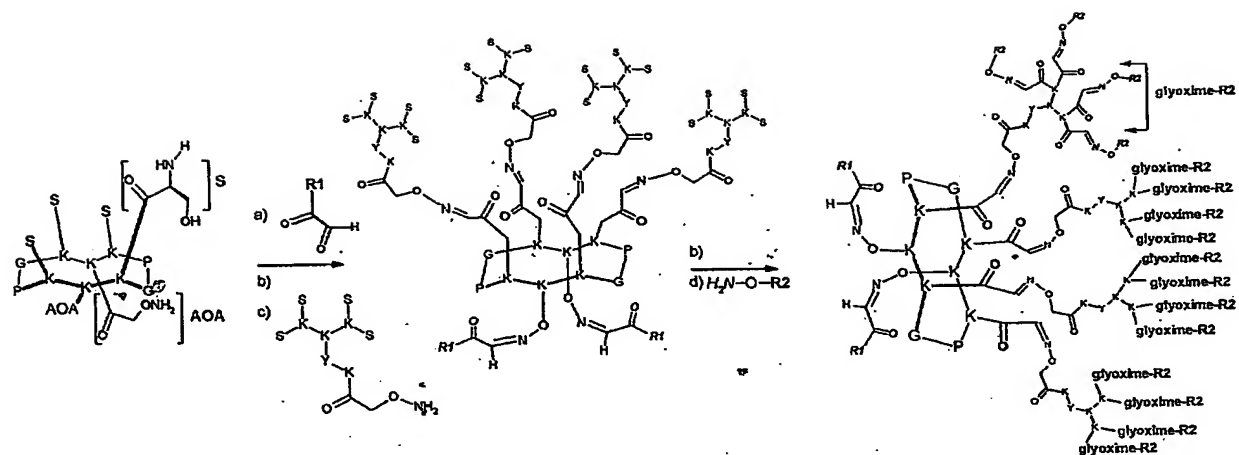


Figure 4



BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11235\*03

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et  
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270501

Vos références pour ce dossier (facultatif) 27117/FR

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 0211614

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

SYNTHESE ET CARACTERISATION DE NOUVEAUX SYSTEMES DE GUIDAGE ET DE VECTORISATION DE  
MOLECULES D'INTERET THERAPEUTIQUE VERS DES CELLULES CIBLES

LE(S) DEMANDEUR(S) :

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
-CNRS-  
3 rue Michel-Ange  
F-75794 PARIS Cedex 16  
France

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

1	Nom	DUMY
	Prénoms	Pascal
Adresse	Rue	Chemin du Chaboud
	Code postal et ville	3 8 5 8 0 ALLEVARD
Société d'appartenance (facultatif)		

2	Nom	FAVROT
	Prénoms	Marie-Christine
Adresse	Rue	1 avenue Branly
	Code postal et ville	3 8 7 0 0 CORENC
Société d'appartenance (facultatif)		

3	Nom	BOTURYN
	Prénoms	Didier
Adresse	Rue	20 rue du Docteur Greffier
	Code postal et ville	3 8 0 0 0 Grenoble
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)

DU (DES) DEMANDEUR(S)

OU DU MANDATAIRE

(Nom et qualité du signataire)

Le 28/10/2002

BREESE Pierre 921038

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 2.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 2706

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>	27117/FR
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>	0211614

**TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)**

SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE NOUVEAUX SYSTÈMES DE GUIDAGE ET DE VECTORISATION DE MOLECULES D'INTERET THERAPEUTIQUE VERS DES CELLULES CIBLES

**1 DEMANDEUR(S) :**

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
CNRS-  
3 rue Michel-Ange  
F-75794 PARIS Cedex 16  
France

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<input checked="" type="checkbox"/> 1	Nom	COLL
	Prénoms	Jean-Luc
Adresse	Rue	5 allée du Pèle
	Code postal et ville	13 18 16 14 10 CLAIIX
Société d'appartenance (facultatif)		
<input type="checkbox"/> 2	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
<input type="checkbox"/> 3	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

**DATE ET SIGNATURE(S)  
DU (DES) DEMANDEUR(S)  
OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

Le 28/10/2002

BREESE Pierre 921038

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**